

## NGHIÊN CỨU NHÂN GIỐNG *IN VITRO* CÂY NHÂN SÂM (*Panax ginseng* C.A. Meyer )

Nguyễn Thị Tình<sup>1\*</sup>, Dương Thị Liên<sup>2</sup>, Vũ Thị Thanh Hằng<sup>1</sup>, Đinh Thị Kim Hoa<sup>1</sup>,  
Vi Đại Lâm<sup>1</sup>, Nguyễn Xuân Vũ<sup>1</sup>, Nguyễn Văn Duy<sup>1</sup>, Nguyễn Tiến Dũng<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học Nông Lâm - ĐH Thái Nguyên

<sup>2</sup>Trung tâm cây có củ Sapa

### TÓM TẮT

Bài báo này trình bày kết quả nghiên cứu về nhân giống cây Nhân Sâm từ đoạn thân. Mục đích của thí nghiệm này là thử nghiệm khả năng tái sinh Nhân Sâm trong môi trường *in vitro*. Kết quả cho thấy đoạn thân non có thể tái sinh trên môi trường MS cải tiến, độ pH 5,8, khử trùng hơi ở nhiệt độ 121°C trong 18 phút. Nhiệt độ phòng nuôi cấy 25°C, ẩm độ 65%, cường độ chiếu sáng 2000 lux, 16 giờ sáng/8 giờ tối. Tỷ lệ chồi/mẫu đạt từ 0,75 đến 2,0, chồi mập và xanh. Chồi sau khi tái sinh được chuyển sang môi trường MS + inositol 100 mg/l + đường 30 g/l + agar 5 g/l + BA 0,5 mg/pH: 5,8 cho hệ số nhân chồi cao nhất là 6,2 lần. Các chồi có chiều cao 2 - 3 cm được cấy sang môi trường MS + inositol 100 mg/l + đường 30 g/l + agar 5 g/l khi bổ sung NAA với nồng độ 0,5 mg/l; pH 5,8 cho tỷ lệ ra rễ đạt 100%, dài rễ đạt 4,7 cm, số rễ/cây là 14,6.

**Từ khóa:** Cây Nhân Sâm, môi trường, *in vitro*, nhân nhanh, chất kích thích sinh trưởng

### MỞ ĐẦU

Nhân Sâm có tên khoa học *Panax ginseng* C.A. Meyer là một loại dược thảo quý hiếm, trong Nhân Sâm có chứa hàm lượng saponin triterpen khá cao, đặc biệt là nhóm dammaran với các hợp chất saponin mà đại diện chính là ginsenosides Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>, Rh<sub>2</sub>, Rg<sub>1</sub>, Rg<sub>3</sub> [8]. Nhân Sâm có vai trò quan trọng cung cấp nguyên liệu cho các ngành dược liệu, mỹ phẩm, thực phẩm chức năng... Ngoài tác dụng bổ dưỡng Nhân Sâm còn nhiều tác dụng đáng ghi nhận như: Ngăn chặn quá trình lão hóa, kích thích hoạt động của bộ não, tăng cường chức năng hệ thống miễn dịch, chống oxy hóa, chống stress, chống viêm, kháng khuẩn, chống khối u, giảm lượng glucose - kích thích tiết insulin và tế bào B, chống trầm cảm, bảo vệ gan, giảm cholesterol và lipit máu, điều hòa tim mạch [8]. Chính vì vậy, Nhân Sâm đang được dùng khá phổ biến. Tuy nhiên, Nhân Sâm có thời gian sinh trưởng dài, phạm vi phân bố hẹp và đang bị khai thác tới mức tận diệt. Phương pháp nhân giống truyền thống bằng: Hạt, giâm hom đầu mầm, giâm hom thân rễ hiệu quả không cao. Đối với nhân giống bằng giâm hom chồi mầm, thân,

rễ quá trình xử lý vật liệu bằng chất kích thích sinh trưởng với nồng độ cao thường xảy ra biến dị gây khó khăn cho việc phát triển diện tích trồng trọt. Điều này dẫn đến việc tạo ra chất lượng giống không ổn định [1]. Ngoài ra, việc điều khiển các loại dịch bệnh, bằng các loại thuốc trừ sâu cũng gây ảnh hưởng đến chất lượng củ [2].

Việc nhân giống Nhân Sâm đã được tiến hành ở Nhật Bản, Triều Tiên và Hàn Quốc. Ở Việt Nam việc nhân giống và trồng Nhân Sâm vẫn chưa được thực hiện. Hiện nay một số đơn vị đã tiến hành nhập cây giống đưa về Việt Nam trồng thử nghiệm. Giá thành cây giống rất cao, cây giống có nguồn gốc từ hạt vì vậy ảnh hưởng tới chất lượng cũng như bệnh hại. Do đó, việc tiến hành nhân giống cây Nhân Sâm Hàn Quốc bằng phương pháp nuôi cấy mô là một hướng góp phần giảm giá thành cây giống. Do vậy chúng tôi tiến hành nghiên cứu: “**Nghiên cứu nhân giống *in vitro* cây Nhân Sâm (*Panax ginseng* C.A. Meyer )**”.

### VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### Vật liệu nghiên cứu

- Giống Nhân Sâm Hàn Quốc trồng tại Thái Nguyên do Viện Rau Quả Hàn Quốc cung cấp. Sử dụng đoạn thân non 3 năm tuổi, khỏe

\* Tel: 0913 574229

manh, sạch bệnh làm nguyên liệu nuôi cấy *in vitro*.

### Phương pháp nghiên cứu

#### *Phương pháp nghiên cứu ảnh hưởng của môi trường MS, B5 và WPM đến khả năng tái sinh chồi cây Nhân Sâm*

Sử dụng môi trường MS, B5, WPM có bổ sung inositol 100 mg/l + đường 30 g/l + agar 5,0 g/l, pH 5,6 - 5,8. Chồi được cấy trên bề mặt môi trường, mỗi bình cấy 1 chồi. Mỗi công thức cấy 30 bình, nhắc lại 3 lần. Sau khi cấy xong đưa vào chăm sóc với điều kiện nhiệt độ phòng từ 25°C, cường độ chiếu sáng 2000 lux, quang chu kỳ 16h sáng/8h tối, độ ẩm 60 - 65%. Tiến hành theo dõi số chồi, chất lượng chồi (quan sát bằng mắt thường).

#### *Phương pháp nghiên cứu ảnh hưởng của chất kích thích sinh trưởng tới khả năng nhân nhanh của chồi cây Nhân Sâm*

Thí nghiệm có 5 công thức với nồng độ từ 0,0 mg cho tới 1 mg/l, mỗi công thức nhắc lại 3 lần, mỗi lần nhắc lại cấy 30 bình, mỗi bình cấy một mẫu. Môi trường tái sinh sử dụng môi trường MS bổ sung thêm Inositol 100 mg/l + đường 30 g/l + agar 5 g/l, pH = 5,6- 5,8.

#### *Phương pháp nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ NAA và than hoạt tính đến khả năng ra rễ của chồi cây Nhân Sâm*

Lựa chọn chồi có từ 3 - 4 lá chuyển sang môi trường ra rễ. Môi trường ra rễ dựa trên môi trường MS có bổ sung NAA với nồng độ từ 0 mg - 1 mg/l và than hoạt tính với hàm lượng 1- 2 g/l để kích thích tạo rễ, hình thành cây con hoàn chỉnh.

Thí nghiệm có 6 công thức, 3 lần nhắc lại, mỗi lần nhắc lại cấy 30 bình, mỗi bình cấy một mẫu. Môi trường tái sinh sử dụng môi trường MS + NAA nồng độ từ 0 - 1 mg/l và 1-2 g/l than hoạt tính bổ sung thêm inositol 100 mg/l + đường 30 g/l + agar 5 g/l, pH 5,8.

### Phương pháp xử lý kết quả

- Xử lý số liệu được thực hiện trên chương trình IRRISTART 4.0.

- Các công thức so sánh được tiến hành theo phương pháp kiểm tra sự sai khác giữa các giá trị trung bình bằng phép ước lượng và sử dụng tiêu chuẩn LSD (Least Significant Different) ở độ tin cậy 95%. Kiểm tra độ biến động của các thí nghiệm được biểu hiện qua chỉ số tiêu chuẩn CV%.

### KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

#### *Kết quả ảnh hưởng của môi trường MS, B5 và WPM đến khả năng tái sinh chồi cây Nhân Sâm*

Hiện nay nhiều loại môi trường được sử dụng trong tái sinh *in vitro* cho các cây khác nhau. Nhìn chung, chúng đều gồm thành phần khoáng, chất kích thích sinh trưởng, nguồn cacbon, các vitamin... Các môi trường khác nhau chỉ thay đổi thành phần nồng độ các chất cơ bản trong môi trường. Để xác định được môi trường thích hợp chúng tôi tiến hành thử nghiệm trên 3 loại môi trường đó là: Môi trường giàu dinh dưỡng (MS), môi trường trung bình (B5) và môi trường nghèo dinh dưỡng (WPM). Tiến hành theo dõi kết quả sau 20 ngày nuôi cấy, kết quả được thể hiện ở bảng 1.

**Bảng 1.** Kết quả ảnh hưởng của môi trường MS, B5 và WPM đến khả năng tái sinh chồi cây Nhân Sâm (sau 20 ngày nuôi cấy)

| Công thức | Chỉ tiêu theo dõi | Tổng mẫu số đưa vào (mẫu/CT) | Tổng số chồi tái sinh (chồi) | Số chồi trung bình/mẫu | Chất lượng chồi     |
|-----------|-------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------|---------------------|
| CT1 (MS)  |                   | 30                           | 60                           | 2,0 <sup>a</sup>       | Chồi mập, xanh      |
| CT2 (B5)  |                   | 30                           | 36                           | 1,2 <sup>b</sup>       | Chồi mập, xanh      |
| CT3 (WPM) |                   | 30                           | 22,5                         | 0,75 <sup>c</sup>      | Chồi nhỏ, xanh nhạt |
|           | LSD.05            |                              |                              | 0,32                   |                     |
|           | CV%               |                              |                              | 0,57                   |                     |

Chú thích: (a,b,c) là những chữ cái khác nhau biểu diễn sự sai khác nhau có ý nghĩa với  $\alpha = 0,05$  trong Duncan's test

Với giá trị  $LSD_{.05}$  đạt 0,32 các công thức khác nhau có sự sai khác có ý nghĩa ở mức độ tin cậy 95%. Trong đó CT1 (MS) tỷ lệ mẫu tái sinh cao nhất đạt 2,0 lần, chồi thu được mập, xanh. Ở công thức 2 (B5) chồi mập, xanh và cao tuy nhiên tỷ lệ mẫu tái sinh đã giảm xuống còn 1,2 lần. Tỷ lệ mẫu tái sinh thấp nhất ở CT3 (WPM) đạt 0,75. Điều này chứng tỏ Nhân Sâm thích hợp trong môi trường giàu dinh dưỡng (môi trường MS).

**Kết quả ảnh hưởng của chất kích thích sinh trưởng tới khả năng nhân nhanh của chồi cây Nhân Sâm**

*Kết quả ảnh hưởng nồng độ BA vào môi trường MS đến khả năng nhân nhanh chồi cây Nhân Sâm*

Cytokinin là nhân tố phá vỡ sự ngủ nghỉ của hạt và chồi. Sự ngủ nghỉ của hạt, chồi và tăng trưởng của chồi được điều hòa bởi mức độ cân bằng giữa những chất ức chế tăng trưởng như ABA và các chất khởi đầu tăng trưởng như cytokinin và gibberellin. Trên cơ sở đó, chúng tôi tiến hành nghiên cứu ảnh hưởng của BA đến khả năng nhân chồi của cây Nhân Sâm.. Kết quả theo dõi được thể hiện ở bảng 2.

**Bảng 2.** Kết quả ảnh hưởng của nồng độ BA đến khả năng nhân nhanh chồi cây Nhân Sâm (sau 30 ngày nuôi cấy)

| Công thức     | Nồng độ BA (mg/l) | Số mẫu nuôi cấy (mẫu/CT) | Tổng số chồi (chồi) | Hệ số nhân (lần) | Chất lượng chồi |
|---------------|-------------------|--------------------------|---------------------|------------------|-----------------|
| CT1 (Đ/C)     | 0                 | 30                       | 36                  | 1,2              | Mập, xanh       |
| CT2           | 0,05              | 30                       | 72                  | 2,4              | Mập, xanh       |
| CT3           | 0,1               | 30                       | 102                 | 3,4              | Mập, xanh       |
| CT4           | 0,5               | 30                       | 144                 | 4,8              | Mập, xanh       |
| CT5           | 1,0               | 30                       | 129                 | 4,3              | Nhỏ, xanh nhạt  |
| <b>LSD.05</b> |                   |                          |                     | <b>0,27</b>      |                 |
| <b>CV%</b>    |                   |                          |                     | <b>4,5</b>       |                 |



CT1



CT2



CT3



CT4

**Hình 2.** Chồi cây Nhân Sâm (*Panax ginseng* C.A. Meyer) trên môi trường bổ sung BA (sau 30 ngày nuôi cấy) ở các nồng độ khác nhau

Với giá trị  $LSD_{.05}$  đạt 0,27 các công thức thí nghiệm có sự sai khác với nhau và với công thức đối chứng có ý nghĩa ở mức độ tin cậy 95%. Hệ số nhân chồi đạt kết quả cao nhất ở công thức 4 (4,8 chồi/mẫu) khi bổ sung BA 0,5 mg/l vào môi trường nuôi cấy cho chồi mập, xanh (hình 2). Công thức 5 cho hệ số nhân chồi đạt 4,3 chồi/mẫu khi sử dụng BA nồng độ 1,0 mg/l, chồi nhỏ, thấp, lá xanh nhạt, gốc xộp sau một thời gian hóa nâu (hình 2). Môi trường không bổ sung BA (CT1) hệ số nhân chồi thấp nhất (1,2 chồi/mẫu), chồi chủ yếu phát triển theo hướng kéo dài. Theo Võ Châu Tuấn và cs (2011) [4], đỉnh sinh trưởng Sâm Cau (*Curculigo orchoides* Gaertn) tái sinh tốt nhất trong môi trường MS bổ sung BA 4,0 mg/l. Điều này cho thấy có thể sử dụng BA vào môi trường nhân giống Nhân Sâm.

*Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ NAA và than hoạt tính bổ sung vào môi trường MS đến khả năng ra rễ của chồi cây Nhân Sâm*

Giai đoạn ra rễ của chồi là công đoạn cuối cùng của quy trình nhân giống bằng phương pháp *in vitro*. Môi trường thường được sử dụng trong giai đoạn ra rễ của chồi sau nhân nhanh là môi trường có bổ sung các chất kích thích có tác dụng kích thích ra rễ thường là các chất thuộc nhóm auxin. Kết quả thí nghiệm được thể hiện trong bảng 3.

Với giá trị  $LSD_{.05}$  đạt 0,82 các công thức thí nghiệm có sự sai khác có ý nghĩa so với đối chứng ở mức độ tin cậy 95%. Các công thức thí nghiệm cho tỷ lệ ra rễ đạt 100%. Ở công thức 4 bổ sung NAA ở nồng độ 1 mg/l cho số rễ và dài rễ cao nhất. Tuy nhiên ở NAA ở nồng độ từ 0,5 - 1 mg/l rễ mảnh (nhỏ).

Than hoạt tính với nồng độ 1 - 2 g/l sử dụng trong thí nghiệm cho thấy số rễ tăng tuy nhiên rễ mảnh (nhỏ). Điều này cho thấy có thể sử dụng than hoạt tính và NAA để tạo cây hoàn chỉnh cho Nhân Sâm.

**Bảng 3.** Kết quả ảnh hưởng của nồng độ NAA và than hoạt tính đến khả năng ra rễ của chồi cây Nhân Sâm (sau 30 ngày nuôi cấy)

| Hóa chất       | Công thức | Nồng độ (mg/l) | Số mẫu nuôi cấy (mẫu/CT) | Số mẫu ra rễ (mẫu) | Chỉ tiêu theo dõi |                                  |                           |                 |
|----------------|-----------|----------------|--------------------------|--------------------|-------------------|----------------------------------|---------------------------|-----------------|
|                |           |                |                          |                    | Tổng số rễ (rễ)   | Chiều dài trung bình của rễ (cm) | Số rễ trung bình/cây (rễ) | Đặc điểm của rễ |
| NAA            | CT1(Đ/C)  | 0              | 45                       | 45                 | 162               | 4,8                              | 3,6                       | Mập, dài        |
|                | CT2       | 0,1            | 45                       | 45                 | 324               | 5,1                              | 7,2                       | Mập, dài        |
|                | CT3       | 0,5            | 45                       | 45                 | 657               | 4,2                              | 14,6                      | Nhỏ, ngắn       |
|                | CT4       | 1,0            | 45                       | 45                 | 540               | 4,7                              | 12,0                      | Nhỏ, ngắn       |
| Than hoạt tính | CT5       | 1,0 (g/l)      | 45                       | 45                 | 301               | 4,6                              | 6,7                       | Nhỏ, ngắn       |
|                | CT6       | 2,0 (g/l)      | 45                       | 45                 | 315               | 5,3                              | 7,0                       | Nhỏ, dài        |
| <b>LSD.05</b>  |           |                |                          |                    |                   |                                  | <b>0,82</b>               |                 |
| <b>CV%</b>     |           |                |                          |                    |                   |                                  | <b>4,9</b>                |                 |



**Hình 3.** Ảnh cây Nhân Sâm giai đoạn ra rễ sau 30 ngày nuôi cấy

Đã có các nghiên cứu bổ sung NAA vào môi trường ra rễ để tạo cây hoàn chỉnh, đặc biệt trên các đối tượng thuộc chi Nhân Sâm. Duong Tan Nhut và cs (2011) [5], sử dụng môi trường SH bổ sung NAA 1 mg/l cho số lượng rễ cao nhất (5,5 rễ/chồi) và chiều dài rễ cao nhất (1,6 cm) khi nghiên cứu Sâm Ngọc Linh.

#### KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

- Môi trường thích hợp cho tái sinh chồi Nhân Sâm là: MS + inositol 100 mg/l + đường 30 g/l + agar 5 g/l, pH: 5,6 - 5,8, tỷ lệ mẫu tái sinh đạt 2,0 lần.

- Môi trường MS + inositol 100 mg/l + đường 30 g/l + agar 5 g/l + BA 0,5 mg/ pH: 5,8 cho hệ số nhân chồi cao nhất là 6,2 lần, chồi xanh và nhỏ.

- Môi trường MS + inositol 100 mg/l + đường 30 g/l + agar 5 g/l khi bổ sung NAA với nồng độ 0,5 mg/l; pH 5,8 cho tỷ lệ ra rễ đạt 100%, dài rễ đạt 4,7 cm, số rễ/cây là 14,6, rễ nhỏ và ngắn.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Thượng Dong, Trần Công Luận và Nguyễn Thị Thu Hương (2007), *Sâm Việt Nam và một số cây thuốc họ Nhân Sâm*, Nxb khoa học và kỹ thuật Hà Nội.
2. Trần Thị Liên, Tạ Như Thục Anh, Nguyễn Văn Thuận (2009), “Nghiên cứu nhân giống *in vitro*

cây Sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.)”, *Tạp chí Dược liệu*, 5(14), tr. 269.

3. Võ Châu Tuấn, Nguyễn Thị Út và Trần Quang Dân (2011), “Nhân giống *in vitro* cây Sâm Cau (*Curculigo orchiodes* Gaertn)-Một loài cây thuốc quý”, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Đại học Đà Nẵng*, 6(47), tr. 163 - 169.

4. Nguyễn Thị Út, Nguyễn Thị Xuân Tâm và Từ Thị Tú (2010), “Ảnh hưởng của chất kích thích sinh trưởng đến khả năng nhân nhanh chồi *in vitro* cây Sâm Cau (*Curculigo orchicoides* Gaertn)”, *Tuyển tập báo cáo khoa học Hội nghị nghiên cứu Khoa học lần thứ 7 Đại học Đà Nẵng*, tr. 523 - 527.

5. Boggetti B., Jásik J., Mantell S. H. (2001), “*In vitro* root formation in *Anacardium occidentale* microshoots”, *Biologia Plantarum*, 44(2), pp. 175-179.

6. Duong Tan Nhut, Nguyen Phuc Huy, Vu Quoc Luan, Nguyen Van Binh, Nguyen Ba Nam, Le Nu Minh Thuy, Dang Thi Ngoc Ha, Hoang Xuan Chien, Trinh Thi Huong, Hoang Van Cuong, Le Kim Cuong and Vu Thi Hien (2011), “Shoot regeneration and micropropagation of *Panax vietnamensis* Ha et Grushv. from *ex vitro* leaf-derived callus”, *African Journal of Biotechnology*, 10(84), pp. 19499 - 19504.

7. Larraburu E. E., Apóstolo N. M., and Llorente B. E. (2012), “*In vitro* propagation of pink lapacho: response surface methodology and factorial analysis for optimisation of medium components”, *International Journal of Forestry Research*, vol.127, pp. 1 - 9.

8. World Health Organization (1999), *WHO Monographs on Selected Medicinal Plants*, chapter 1.

## SUMMARY

**STUDY ON *IN VITRO* PROPAGATION  
OF GINSENG (*Panax ginseng* C.A. Meyer)**

Nguyễn Thị Tinh<sup>1\*</sup>, Duong Thi Lien<sup>2</sup>, Vu Thi Thanh Hang<sup>1</sup>, Dinh Thi Kim Hoa<sup>1</sup>,  
Vi Dai Lam<sup>1</sup>, Nguyen Xuan Vu<sup>1</sup>, Nguyen Van Duy<sup>1</sup>, Nguyen Tien Dung<sup>1</sup>

<sup>1</sup>University of Agriculture and Forestry - TNU

<sup>2</sup>Sapa Center of Root Crop

This paper is presented the results of ginseng propagation from node segments. The aim of this experiments were study on the regeneration ability of ginseng in vitro culture medium. The results showed that young node segments could be regenerated on MS (Murashige and Skoog) medium, pH 5.8 and sterilized at 121°C for 18 minutes under the condition of culture growth room at 25°C, humidity 65%, light intensity 2000 lux, and 16 hour-light per day. The alue/ sample ratio from 0.75 to 2.0, *sprout* shoots and blue. Regenerated shoots were then transferred to MS medium supplemented with inositol 100 mg/l + sugar 30 grs/l + agar 5 grs/l + BA 0.5 mg/l, pH: 5.8 resulting in the highest of *shoot number per sample* (6,2 shoots/sample). When shoots were 2 - 3 cm in length they were tranferred to MS medium supplemented with inositol 100 mg/l + sugar 30 grs/l + agar 5 grs/l + BA 0.5 mg/l and NAA 0.5 mg/l. The results showed that 100% of samples produced roots, 4.7 cm in length and number of roots were 14.6 roots/plant.

**Key words:** *ginseng, culture medium, in vitro, propagation, plant growth regulators*

*Ngày nhận bài: 17/8/2018; Ngày phản biện: 06/9/2018; Ngày duyệt đăng: 12/10/2018*

---

\* Tel: 0913 574229